

## Diversidad genética en los geminivirus del frijol transmitidos por mosca blanca

Douglas, P. Maxwell<sup>1</sup>, Robert L. Gilbertson<sup>2</sup>, Stephen F. Hanson<sup>1</sup>, Josias C. de Faria<sup>3</sup>, Paul Ahlquist<sup>1</sup>, Wayne McLaughlin<sup>4</sup> y Francisco Morales<sup>5</sup>. <sup>1</sup>Universidad de Wisconsin-Madison, <sup>2</sup>Universidad de California, Davis; <sup>3</sup>CNPAF, Goiania, Brazil; <sup>4</sup>Universidad de las Indias Occidentales, Jamaica; <sup>5</sup>CIAT, Cali, Colombia.

La diversidad de los geminivirus que infectan el frijol común, esta plasmada en las diversas propiedades biológicas de estos virus. Por ejemplo, el virus del mosaico dorado del frijol (BGMV) del Brasil, no ha podido ser transmitido mecánicamente (Figueira, 1980; Gilbertson *et al.*, 1991b), mientras que los aislamientos de Centro America, México y del Caribe han sido transmitidos manualmente (Bird *et al.*, 1977; Morales y Niessen, 1988). El virus del mosaico enano del frijol (BDMV) causa síntomas de enanismo y deformación diferentes a los inducidos por BGMV en frijol (Morales, *et al.*, 1990). Los virus transmitidos mecánicamente en el norte de México causan síntomas diferentes (clorosis intensa) al mosaico dorado, por lo que se le ha llamado mosaico 'calico' (Brown *et al.*, 1990).

El BGMV de Puerto Rico fue usado para demostrar que el genoma de este virus era ADN de cadena sencilla (Goodman, 1977). La secuencia de nucleótidos de los dos componentes virales (A y B) de este virus, mostró que tenía seis genes que codifican proteínas de peso mayor que 10 kDa (Howarth, *et al.*, 1985; Morinaga *et al.*, 1987). Entre los componentes A y B existe una 'región común' de aproximadamente 200 nucleótidos, que funciona como el origen de la replicación (Lazarowitz *et al.*, 1992).

Recientemente, tres aislamientos adicionales del BGMV, fuera del de Puerto Rico, han sido secuenciados (Faria *et al.*, 1994; Gilbertson *et al.*, 1991a; Gilbertson *et al.*, 1993): los aislamientos de Guatemala (GA) y de la República Dominicana (DR) transmisibles mecánicamente; y un aislamiento de Brasil (BZ) no transmisible por medios mecánicos. Estos aislamientos tienen genomas bipartitas y una organización genómica similar a la del BGMV-P.Rico.

Un estudio comparativo de las secuencias de estos aislamientos, mostró que el BGMV-BZ era distinto de los aislamientos BGMV-DR y GA, los cuales eran casi iguales entre si y con relación al BGMV-PR. La comparación de la secuencia de la 'región común' entre BGMV-PR y BZ arrojó solo un 57% de identidad (Gilbertson *et al.*, 1993), mientras que la misma comparación entre los aislamientos PR, DR, y GA del BGMV, demostró una similitud mayor de 90% entre estos (Faria *et al.*, 1994). El otro geminivirus aislado del frijol, el del mosaico 'calico' (BCMoV), también tiene un genoma bipartita y su secuencia es más parecida a la reportada para el geminivirus del enrollamiento foliar de la calabaza (SqLCV) (Loniello *et al.*, 1992). La comparación de la secuencia de la región común del BCMoV en relación a las de los otros aislamientos del BGMV produjo un porcentaje de identidad menor del 60% (ver figura 1 del siguiente artículo, Loniello *et al.*, donde se muestra la posición de estos aislamientos en el árbol filogenético).

En cuanto a la relación filogenética entre los geminivirus del frijol tratados aquí, se demostró que estos geminivirus pertenecían a cuatro ramas filogenéticas diferentes. Los aislamientos del Caribe (PR y DR) y Guatemala (GA) pertenecen a una rama distinta de la del BGMV-BZ, la cual forma parte de un grupo divergente de geminivirus originarios de la América del Sur, incluyendo el virus del mosaico dorado del tomate. El BDMV está en una rama que incluye el geminivirus del moteado del tomate de Florida, y el geminivirus del mosaico del Abutilon de las Indias Occidentales. El BCMoV, como se explicó ya, pertenece a una rama donde se encuentra el geminivirus del enrollamiento foliar de la calabaza. Los geminivirus en esta rama poseen una secuencia característica.

Los aislamientos o cepas del BGMV han sido divididas en dos tipos según sus propiedades biológicas y secuencia. Así, el BGMV-BZ ha sido designado como Tipo I, y los aislamientos relacionados al BGMV-PR (GA y DR) son Tipo II (Gilbertson *et al.*, 1993).

Adicionalmente, los estudios de diversidad genética del BGMV han sido realizados mediante la técnica de amplificación del ADN con polimerasa (PCR). Para este efecto, se obtuvo la secuencia de la región más variable del genoma (la región intergénica en el componente B) para cinco aislamientos de campo del Occidente de la República Dominicana. Los resultados indicaron que existía más del 95% de identidad entre estos aislamientos y el aislamiento patrón (BGMV-DR). Mas aún, se recogieron aislamientos de Puerto Rico, Jamaica, Costa Rica, Nicaragua, y Guatemala, resultando todos los aislamientos como tipo II, estrechamente relacionados a los aislamientos secuenciados aquí como tipo II (BGMV-PR, GA y DR). Se concluye que los aislamientos del tipo II del BGMV predominan en la América Central y en El Caribe.

Una investigación final sobre la variabilidad genética a través del tiempo, demostró que un aislamiento del BGMV-PR tomado en 1973, aún poseía 98% de homología con otro aislamiento del BGMV-PR colectado en 1992 (secuencia tomada para la región común y la intergénica del ADN-A).

**Traducción:** Francisco J. Morales - Unidad de Virología - CIAT

## Referencias

- Bird, J., R.L. Rodriguez, A. Cortes-Monllor and J. Sanchez. 1977. Transmission del mosaico dorado de la habichuela (*Phaseolus vulgaris*) en Puerto Rico por medios mecánicos. Fitopatología 12: 28-30.
- Brown, J.K. Chapman, M.A., and Nelson, M.R. 1990. Bean calico mosaic, a new disease of common bean caused by a whitefly-transmitted geminivirus. Plant Dis. 74:81.

- Faria, J.C., Gilbertson, R.L., Hanson, S.F., Morales, F.J., Ahlquist, P., Loniello, A. O., and Maxwell, D.P. 1993. Bean Golden mosaic geminivirus type II isolates from the Dominican Republic and Guatemala: Nucleotide sequence, infectious pseudo recombinants, and phylogenetic relation ships. *Phytopathology* 83: (Accepted).
- Figueira, A.R. 1980. Estudos realizados com o vírus do mosaico dourado do feijoeiro do Brasil, visando sua transmissão por métodos mecânicos. Tese de Mestrado. UNICAMP. Campinas, S.P. Brasil. 60 pp.
- Gilbertson, R.L., Faria, J.C., Ahlquist, P., and Maxwell, D.P. 1993. Genetic diversity in geminiviruses causing bean golden mosaic disease: The nucleotide sequence of the infectious cloned DNA components of a Brazilian isolate of bean golden mosaic geminivirus. *Phytopathology* 83: 709-715.
- Gilbertson, R.L., Faria, J.C., Hanson, S.F., Morales F.J., Ahlquist, P. Maxwell, D.P., and Russell, D.R. 1991a. Cloning of the complete DNA genomes of four bean-infecting geminiviruses and determining their infectivity by electric discharge particle acceleration. *Phytopathology* 81: 980-985.
- Gilbertson, R.L., Hidayat, S.H., Martinez, R.T., Leong, S.A., Faria, J.C., Morales, F., and Maxwell, D.P. 1991b. Differentiation of bean-infecting geminiviruses by nucleic acid hybridization probes and aspects of bean golden mosaic in Brazil. *Plant Dis.* 75:336-342.
- Gilbertson R.L., Rojas, M.R., Russell, D.R., and Maxwell, D.P. 1991c. Use of the asymmetric polymerase chain reaction and DNA sequencing to determine genetic variability of bean golden mosaic geminivirus in the Dominican Republic. *J. Gen. Virol.* 72:2843-2848.
- Goodman, R.M. 1977. Single-stranded DNA genome in a whitefly-transmitted plant virus. *Virology* 83:171-179.
- Hidayat, S.H., Gilbertson, R.L., Hanson, S.F., Morales, F.J., Ahlquist, P., Russell, D.R., and Maxwell, D.P. 1993. Complete nucleotide sequences of the infectious cloned DNAs of bean dwarf mosaic geminiviruses. *Phytopathology* 83:181-187.
- Lazarowitz, S.G., Wu, L.C., Rogers, S.G., and Elmer, J.S. 1992. Sequence-specific interaction with the viral AL1 protein identifies a geminivirus DNA replication origin. *Plant Cell* 4: 799-809.
- Loniello, A.O., R.T. Martinez, M.R. Rojas, R.L. Gilbertson, J.K. Brown, and D.P. Maxwell. 1992. Molecular characterization of bean calico mosaic geminivirus (Abstr.).



- Morales, F.J., and Niessen, A.I. 1988. Comparative responses of selected *Phaseolus vulgaris* germplasm inoculated artificially and naturally with bean golden mosaic virus. *Plant Dis.* 72:1020-1023.
- Morales, F., Niessen, A.I., Ramirez, B.C. and Castaño, M. 1990. Isolation and partial characterization of a geminivirus causing bean dwarf mosaic. *Phytopathology* 80:96-101.
- Morinaga, T., Ikegami, M., Shimotohno, K., and Miura, K. 1987. Total nucleotide sequences of the infectious cloned DNAs of bean golden mosaic virus. *Microbiol. Immunol.* 31. 147-154.
- McLaughlin, W., Azzam, O., Rojas, M.R., Nakhla, M.K., Frazer, J.R., Hidayat, S.H., Anderson, P., Rojas, A., Beaver, J.S., and Maxwell, D.P. 1994. Distribution of type II isolates of bean golden mosaic virus in Central America and the Caribbean Basin. *Plant Dis.* (In press).

## English Summary

### Genetic Diversity of Bean-Infecting Whitefly-Transmitted Geminiviruses

Douglas, P. Maxwell<sup>1</sup>, Robert L. Gilbertson<sup>2</sup>, Stephen F. Hanson<sup>1</sup>, Josias C. de Faria<sup>3</sup>, Paul Ahlquist<sup>1</sup>, Wayne McLaughlin<sup>4</sup> and Francisco Morales<sup>5</sup>. <sup>1</sup>University of Wisconsin-Madison, <sup>2</sup>University of California, Davis; <sup>3</sup>CNPAF, Goiania, Brazil; <sup>4</sup>Universidad de las Indias Occidentales, Jamaica; <sup>5</sup>CIAT, Cali, Colombia.

Diversity of bean-infecting geminiviruses is indicated by differences in biological properties between the geminiviruses found in different regions. The sequence analysis of the two components (DNA-A and DNA-B) of bean golden mosaic virus (BGMV)-Puerto Rican isolate, showed that it had six open reading frames (genes) coding for proteins over 10 kDa. The only sequence similar between these two components was a 200 nucleotide (nt) region (common region).

Three other isolates of BGMV besides the one from Puerto Rico have been sequenced: two sap transmissible isolates [one from Dominican Republic (DR) and an other from Guatemala (GA)] and a nonsap transmissible isolate from Brazil (BZ). These three isolates had bipartite genomes and had a similar genome organization to that of BGMV from Puerto Rico (PR). Sequence comparisons indicated that BGMV-BZ was distinct from the other two isolates which were nearly identical to BGMV-PR. The comparison of common region sequence between BGMV-PR and BGMV-BZ gave 57% identity, whereas, comparisons among the isolates BGMV-PR, BGMV-DR and BGMV-GA gave >90% identities.

The other golden mosaic causing geminivirus, BCMoV, also has a bipartite genome and sequence analysis indicates that this virus is most closely related to squash leaf curl geminivirus. Comparisons of the common region sequence of BCMoV with those of the other BGMV isolates gave nt identities <60%. BDMV is distinct from other bean-infecting geminiviruses producing golden mosaic symptoms.

Studies of the phylogenetic relationships among the four types of bean-infecting geminiviruses clearly showed that they belong to four distinct phylogenetic clusters (branches). The BGMV isolates from the Caribbean and Guatemala are a cluster different from BGMV-BZ, which is part of a more divergent group. The BDMV isolate from Colombia is in a cluster of geminivirus which includes tomato mottle virus from Florida and Abutilon mosaic virus from the West Indies. BCMoV is part of the squash leaf curl virus cluster. Thus, these bean-infecting geminivirus had four different evolutionary origins.

The BGMV isolates have been divided into two types based on biological properties and sequence differences. The BGMV-BZ isolate is designated type I and isolates closely related to BGMV-PR are type II. Type II isolates would include BGMV-GA and BGMV-DR.